



MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO
DIREZIONE GENERALE PER LA TUTELA DELLA PROPRIETÀ INDUSTRIALE
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

UIBM

DOMANDA NUMERO	101994900367509
Data Deposito	17/05/1994
Data Pubblicazione	17/11/1995

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
C	07	D		
Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	61	K		

Titolo

DERIVATI DI ACIDI AMMINO-SOLFONICI , LORO IMPIEGO NELLA SINTESI DI
PSEUDOPEPTIDI E PROCEDIMENTO PER LA LORO PREPARAZIONE

TITOLARE: UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI MILANO

MI 94 A 000989

OGGETTO DELL'INVENZIONE

La presente invenzione ha per oggetto derivati di acidi ammino-solfonici e loro impiego nella sintesi di pseudopeptidi caratterizzati dalla presenza di almeno un legame di tipo solfonammidico e dotati di potenziale attivita' farmacologica. Pure oggetto della presente invenzione e' un procedimento per la sintesi di detti derivati di acidi ammino-solfonici nonche' il loro impiego nella sintesi di detti pseudopeptidi.

STATO DELLA TECNICA

Come e' noto, i peptidi sono stati a lungo studiati in quanto rappresentano il termine di passaggio nello studio di sostanze piu' complicate quali le proteine; inoltre i peptidi sono gia' di per se stessi composti estremamente importanti in quanto mediatori di sistemi biologici e mostrano grande importanza in campo fisiologico e medico.

Grazie alle loro caratteristiche, i peptidi svolgono in natura un ruolo biologico fondamentale, ed in molti casi rappresentano dei farmaci da impiegare nelle diverse situazioni patologiche. A questo proposito, a partire dagli anni '50 sono stati condotti molti studi allo scopo di determinare la struttura di un vasto numero di peptidi biologicamente attivi; la determina-

zione delle strutture ha consentito di mettere a punto la sintesi dei peptidi in esame e di poterne quindi studiare i potenziali effetti terapeutici.

In molti casi questi studi hanno dato risultati soddisfacenti, e nel corso degli anni si e' riusciti a determinare la struttura, e di conseguenza a sintetizzare, molti peptidi e proteine ad attivita' farmacologica. Uno dei risultati piu' importanti ottenuti in questo campo e' stato la determinazione dell'intera serie di amminoacidi e la sintesi della proteina insulina; altri studi hanno riguardato, ad esempio il glutatione, un tripeptide che si trova nella maggior parte delle cellule viventi, la alfa-corticotropina che e' formata da 39 amminoacidi ed e' un componente dell'ormone adrenocorticotropico ACTH e l'ossitocina, un nonapeptide, che e' un ormone dell'ipofisi implicato nelle contrazioni dell'utero; proprio quest'ultimo peptide, dopo lunghi studi, e' stato isolato, caratterizzato e sintetizzato come riportato in V. du VIGNEAUD, C.RESSLER, J.M.SWAN, C.W.ROBERTS, P.G.KATSOYANIS, S.GORDON, J.Am.Chem.Soc. 75,4879 (1953). Grazie a tali studi oggi questa sostanza costituisce un farmaco vero e proprio che viene normalmente impiegato durante il parto per indurre le contrazioni. Di interesse clinico e' anche un analogo della vasopressina, costi-

tuito da otto amminoacidi e sintetizzato da R.HUGUENIN, et al., *Helv.Chim.Acta* 49,695 (1966) e I.VAVRA et al., *Lancet* 1,948 (1968), che si e' dimostrato un potente e selettivo antidiuretico da impiegare nel trattamento del diabete insipido.

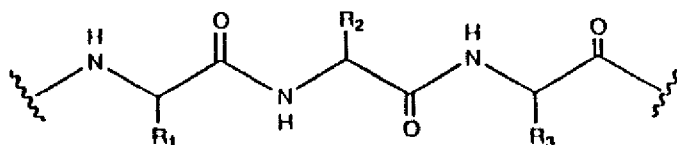
Sono stati inoltre sintetizzati altri peptidi analoghi della vasopressina, che pure hanno mostrato attivita' antidiuretica e si sono dimostrati utili nel favorire un aumento della pressione sanguigna.

Come e' noto, la struttura dei peptidi e' caratterizzata dalla presenza di legami ammidici che vengono anche indicati con il termine di legami peptidici; tali legami presentano il grave inconveniente di essere facilmente idrolizzabili ad opera di enzimi idrolitici (proteasi) deputati al loro riconoscimento. La suddetta azione idrolitica ad opera degli enzimi, provoca la rottura della molecola del peptide in frammenti di diverse lunghezze, generalmente privi dell'attivita' farmacologica caratteristica del peptide di partenza. Appare quindi evidente che l'impiego dei peptidi come farmaci comporta il grave svantaggio che il piu' delle volte la molecola dotata di attivita' farmacologica non arriva al "target", non raggiunge il bersaglio dove esercitare l'azione farmacologica, in quanto appena entrata in circolo viene aggredita dagli enzimi idroli-

tici e a causa dell'avvenuta idrolisi di alcuni legami peptidici, viene ridotta in piu' frammenti quasi sempre privi di attivita' farmacologica. Inoltre, in generale, i peptidi mostrano bassa o nulla biodisponibilita' orale, con conseguenti problemi di somministrazione.

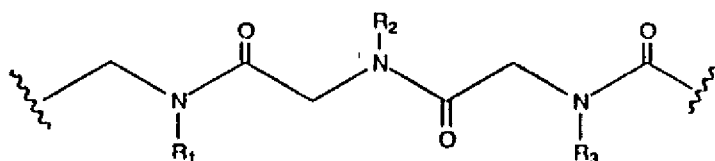
Per ovviare agli inconvenienti sopra descritti, sono stati condotti molti studi atti ad individuare composti dotati di struttura e caratteristiche simili a quelle dei peptidi allo scopo di mantenerne l'attivita' farmacologica, ma caratterizzati dal fatto che uno o piu' legami peptidici, responsabili della gia' descritta instabilita' delle molecole peptidiche e causa della loro degradazione in frammenti inferiori, sono sostituiti da legami di tipo diverso.

Ad esempio, sono stati descritti da REYNA J. SIMON et al. della Chiron Corp. [Proc.Natl.Acad.Sci.,U.S.A., 89,9367 (1992)] i cosiddetti "peptoids", composti che contengono nella loro struttura le stesse catene laterali presenti negli amminoacidi naturali, ma risultano derivati dal legame tra piu' molecole di glicina N-sostituita; di conseguenza non presentando i legami ammidici caratteristici dei peptidi naturali, come mostrato nelle formule seguenti, risultano resistenti alla degradazione enzimatica e di potenziale impiego come farmaci "peptidomimetici".



peptide

peptoid



Altri metodi utilizzati per la sintesi dei composti "peptidomimetici", prevedono l'impiego dei cosiddetti amminoacidi viniloghi nella costruzione della sequenza prestabilita; come riportato ad esempio su C&EN, September 20, 1993, p.34, un amminoacido vinilogo e' un composto nel quale un gruppo etilenico (e cioe' due atomi di carbonio uniti da un doppio legame) e' inserito tra l'atomo di carbonio in posizione alfa e l'atomo di carbonio carbonilico di un amminoacido convenzionale. Un amminoacido vinilogo (la Tirosina viniloga) e', per esempio, componente di un peptide ciclico, la cicloteonamide, inibitore della trombina [SCHREIBER S.L. et al. JACS 114,6570 (1992); SCHREIBER et al. JACS 115,12619 (1993)].

L'impiego di amminoacidi viniloghi nella sintesi di peptidomimetici, conferisce ai composti ottenuti parti-

colari caratteristiche chimico fisiche e conformazionali che possono indurre, ad esempio, una diversa e piu' marcata attivita' farmacologica rispetto ai corrispondenti peptidi tradizionali, ma non risolve il problema gia' descritto dell'idrolisi del legame peptidico che risulta presente anche nei peptidomimetici cosi' ottenuti.

Sempre allo scopo di ovviare agli inconvenienti gia' descritti, molti gruppi di ricerca nel mondo hanno studiato la possibilita' di sostituire almeno un legame ammidico all'interno della struttura peptidica con legami dotati di caratteristiche simili, ma non piu' riconoscibili dagli enzimi idrolitici, cercando in questo modo di rendere la molecola meno sensibile all'idrolisi, pur mantenendo il piu' possibile inalterata la sequenza di amminoacidi naturali che costituiscono il peptide allo scopo di conservarne l'attivita' farmacologica caratteristica. Questo tipo di approccio e' noto come "sostituzione isosterica" del legame peptidico e consiste ad esempio nel sostituire tale legame peptidico ($-\text{CO}-\text{NH}-$) con gruppi quali chetometilene isosteri ($-\text{CO}-\text{CH}_2-$), ammine ($-\text{CH}_2-\text{NH}-$), legami etilenici ($-\text{CH}=\text{CH}-$), alfa-difluoro chetoni ($-\text{CO}-\text{CF}_2-$), isosteri del ciclopropano e simili [Angew.Chem. Int.Ed.Engl. 30, 1283-1301 (1991)]. L'approccio sopra

descritto, ha permesso di ottenere composti "pseudopeptidi" dotati di una biostabilità significativamente maggiore anche se tali sostituzioni del legame ammidico hanno comunque provocato negli pseudopeptidi ottenuti problemi di solubilità e di somministrazione. Un particolare tentativo di sostituzione isosterica del legame peptidico è riportato da D.B.SHERMAN, A.F.SPATOLA, J.Am.Chem.Soc. 112,433-441 (1990), i quali, per realizzare tale sostituzione, hanno utilizzato un legame tioammidico (-CS-NH-) che si differenzia da quello peptidico (-CO-NH-) per la sostituzione dell'ossigeno ammidico con lo zolfo; purtroppo, nonostante le tioammidi mimino in modo soddisfacente le ammidi, gli studi biologici condotti su questi pseudopeptidi hanno dimostrato che il comportamento biologico dei composti contenenti legami tioammidici non è prevedibile.

Sempre nel campo della sostituzione isosterica del legame peptidico, sono stati anche studiati pseudopeptidi caratterizzati dalla presenza di almeno un legame solfonammidico in sostituzione di un legame ammidico [MOREE, W.J. et al. Tetrahedron Letters 33,6389 (1992); KRICHELDORF, H.R. et al. Synthesis 43 (1976); LUISI, G. et al. Tetrahedron Letters 34,2391 (1993)]; questa modifica crea un surrogato del legame peptidico che

risulta caratterizzato da significativi cambiamenti nella polarita', nella capacita' di dare legami ad idrogeno e nel carattere acido-base della molecola. Inoltre, il legame solfonamidico mostra una maggiore stabilita' metabolica rispetto al legame ammidico e risulta strutturalmente simile allo stato di transizione tetraedrico coinvolto nella idrolisi enzimatica del legame ammidico, rendendo gli pseudopeptidi contenenti almeno un legame solfonamidico interessanti candidati nello sviluppo di inibitori enzimatici e di nuovi farmaci [LEVENSON, C.H. et al. J. Med. Chem. 27, 228 (1984); GUEGAN, R. et al. J. Med. Chem. 29, 1152 (1986); MAZDIYASNI, H. et al. Tetrahedron Letters 34, 435 (1993)].

Per realizzare pseudopeptidi caratterizzati dalla presenza di almeno un legame solfonamidico, si e' tentato di impiegare le alfa-amminosolfonammidi, che pero' sono note essere instabili e decomporre immediatamente per frammentazione [FRANKEL, M. et al. Tetrahedron 9, 289 (1960); GILMORE, W.F. et al. J. Org. Chem. 43, 4335 (1978); MOE, G.R. et al. Tetrahedron Letters 22, 537 (1981); GARRIGUES, B. et al. Synthesis 810 (1988); MERRICKS, D. et al. J. Chem. Soc., Perkin 1, 2169 (1991)]. In alternativa sono state impiegate le beta-amminosolfonammidi che sono invece composti stabili;

gli pseudopeptidi risultanti presentano pero' una flessibilita' conformazionale troppo elevata, in quanto il legame semplice carbonio-carbonio [$\text{-HNCHR-CH}_2\text{SO}_2\text{-}$] cosi' introdotto nello scheletro dello pseudopeptide, induce nella molecola un aumento dei gradi di liberta' , grazie alla possibilita' di rotazione attorno al suo asse, con conseguente aumento delle conformazioni possibili. E' da notare che l'attivita' farmacologica molto dipende dallo stato conformazionale della molecola che costituisce il principio attivo.

SCOPI DELL'INVENZIONE

Scopo pertanto del presente trovato e' quello di realizzare prodotti derivati di acidi ammino-solfonici atti ad essere impiegati nella sintesi di pseudopeptidi provvisti di legami stabili all'azione idrolitica enzimatica.

Altro scopo del presente trovato e' quello di mettere a disposizione prodotti derivati di acidi ammino-solfonici atti ad essere impiegati nella sintesi di pseudopeptidi che siano dotati di potenziale attivita' farmacologica.

Ulteriore scopo del presente trovato e' quello di mettere a disposizione pseudopeptidi dotati di migliore biodisponibilita' rispetto ai corrispondenti composti peptidici, nonche' dotati di caratteristiche chimico-

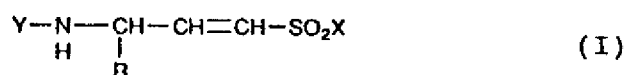
fisiche piu' favorevoli al loro impiego come inibitori enzimatici.

Ancora un altro scopo del presente trovato e' quello di mettere a disposizione un procedimento per la sintesi di derivati di acidi ammino-solfonici che sia di facile realizzazione ed applicazione industriale, e che presenti notevoli vantaggi economici.

Ulteriore scopo del presente trovato e' quello di realizzare un procedimento per l'impiego di derivati di acidi ammino-solfonici nella sintesi di pseudopeptidi contenenti almeno un legame solfonamidico.

DESCRIZIONE DELL'INVENZIONE

Questi ed altri scopi ancora e relativi vantaggi che piu' chiaramente risulteranno dalla descrizione che segue, vengono raggiunti da prodotti atti ad essere impiegati nella sintesi di pseudopeptidi, i quali prodotti, secondo la presente invenzione, hanno la seguente formula generale:



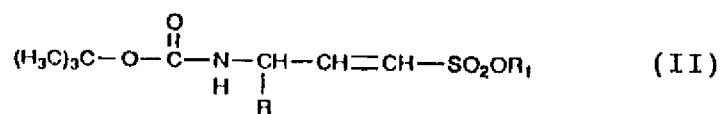
dove:

R e' scelto tra : idrogeno, frammenti corrispondenti alle catene laterali degli amminoacidi naturali ed in particolare degli amminoacidi proteinogenici, catene alchiliche sostituite o non sostituite, lineari, ramificate o cicliche, catene arilalchiliche, gruppi arilici ed eteroaromatici;

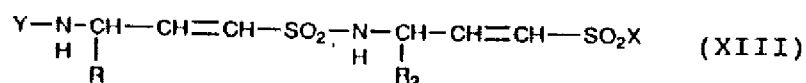
Y indica idrogeno ed in questo caso sono comprese le possibili forme saline dell'ammina corrispondente, oppure un qualsiasi gruppo protettivo comunemente utilizzato per la protezione dei gruppi amminici;

X indica Cl, OH, OCH₂CH₃, OCH₃, ONBu₄, NHCH₂Ph.

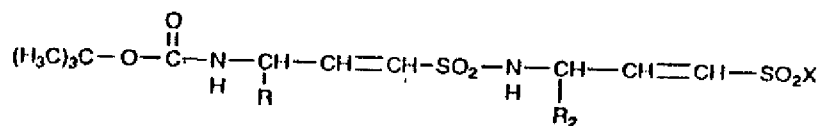
Piu' particolarmente, sempre secondo la presente invenzione, detto R e' scelto tra le catene laterali presenti negli amminoacidi proteinogenici, detto Y e' uguale al gruppo protettivo (CH₃)₃C-OCO-, detto X e' uguale a OR₁ dove R₁ e' scelto tra -CH₃ e -CH₂CH₃, secondo la formula seguente:



Si e' visto che detti derivati di formula generale (I), o derivati di acidi solfonici gamma-ammino-alfa,beta-insaturi, sono utilizzabili come sintoni nella sintesi di pseudopeptidi caratterizzati dalla presenza di almeno un legame solfonammidico coniugato ad un doppio legame, ad esempio secondo la formula seguente:



dove R_2 e' scelto tra idrogeno, frammenti corrispondenti alle catene laterali degli amminoacidi naturali ed in particolare degli amminoacidi proteinogenici, catene alchiliche sostituite o non sostituite, lineari, ramificate o cicliche, catene arilalchiliche, gruppi arilici ed eteroaromatici, e puo' essere uguale ad R. In particolare, quando Y e' scelto uguale al gruppo protettivo $(\text{CH}_3)_3\text{C}-\text{OCO}-$, la formula e' la seguente:



(III)

I composti pseudopeptidi ottenuti impiegando detti derivati (I) risultano, sempre secondo la presente invenzione, meno sensibili all'azione idrolitica degli enzimi rispetto ai corrispondenti peptidi, in quanto sono caratterizzati dalla presenza di almeno un legame di tipo solfonamidico che, a differenza del legame ammidico, non e' soggetto all'idrolisi da parte degli enzimi proteolitici, anzi ne e' un potenziale inibitore. Ne consegue che lo pseudopeptide solfonamidico cosi' ottenuto risulta piu' stabile del peptide corrispondente, e grazie a questa stabilita' puo' raggiungere piu' facilmente il "target" o bersaglio, dove e' in grado di esercitare una eventuale azione farmacologica. Detta maggiore stabilita' all'idrolisi enzimatica puo' consentire, nel caso di un impiego terapeutico di detto pseudopeptide solfonamidico, la somministrazione di un basso dosaggio, con conseguenti evidenti vantaggi di tollerabilita' generale.

La presenza del doppio legame in posizione alfa-beta secondo il trovato, consente di ottenere pseudopeptidi di tipo solfonamidico che presentano una rigidita' strutturale molto aumentata rispetto agli analoghi pseudopeptidi contenenti unita' beta-ammino, alfa-solfoniche, che conferiscono, come gia' detto, allo pseudopeptide derivato una flessibilita' conformazionale

troppo elevata. La rigidita' strutturale, caratteristica di pseudopeptidi solfonammidici ottenuti impiegando detti derivati di acidi solfonici gamma-ammino-alfa,beta-insaturi secondo la presente invenzione, porta ad una riduzione dei possibili stati conformazionali assunti dalla molecola; si e' visto inoltre che detta rigidita' strutturale conferisce agli pseudopeptidi solfonammidici alcune caratteristiche simili a quelle dei corrispondenti peptidi, riconducibili ad esempio alla possibilita' di formazione di legami ad idrogeno intramolecolari e cioe' tra varie parti che costituiscono la molecola.

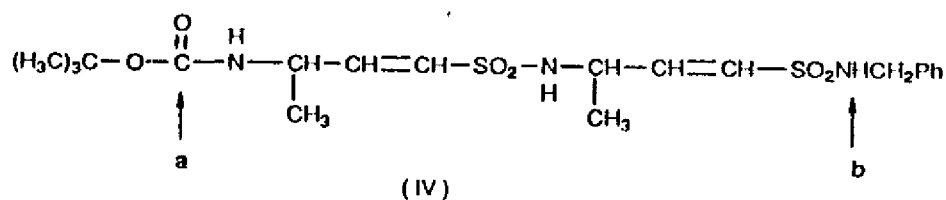
Ad esempio, sempre secondo la presente invenzione, il derivato di formula (I) dove:

X e' scelto uguale a Cl

Y e' scelto uguale a $(CH_3)_3C-OCO-$

R e' scelto uguale a Me,

viene impiegato per la preparazione del composto (IV) avente la formula seguente:



Si e' visto che il composto (IV) in soluzione di adatto solvente, e' caratterizzato dalla formazione di un legame ad idrogeno tra il gruppo carbonilico indicato con "a" ed il gruppo -NH- indicato con "b" nella formula; la formazione di un legame ad idrogeno del tipo sopra indicato, obbliga il suddetto composto (IV) ad assumere una disposizione spaziale corrispondente ad un ciclo a 14 atomi, con conseguenti vincoli conformazionali di rilievo che si traducono in una notevole rigidita' conformazionale. Come noto, le conformazioni caratteristiche dei tradizionali composti peptidici sono in parte influenzate dalla possibilita' di formazione di legami ad idrogeno intramolecolari; tali legami ad idrogeno, creando un vincolo ai possibili gradi di liberta' della molecola, provocano una notevole diminuzione delle conformazioni possibili.

L'impiego di derivati di acidi solfonici gamma-ammino-alfa,beta-insaturi secondo la presente invenzione per l'ottenimento di corrispondenti pseudopeptidi solfonamidici, consente inoltre di ottenere potenziali farmaci caratterizzati da una biodisponibilita' soddisfacente e di conseguenza, facilmente somministrabili.

Sempre secondo la presente invenzione, detti derivati di acidi solfonici gamma-ammino-alfa,beta-insaturi

possono essere anche funzionalizzati al doppio legame secondo metodi noti, ad esempio si può ottenere in posizione alfa-beta un gruppo epossido, oppure un gruppo ciclopropano, in grado comunque di conferire rigidità alla molecola. Detta funzionalizzazione del doppio legame può essere effettuata sia sul derivato dell'acido solfonico gamma-ammino-alfa,beta-insaturo di formula generale (I) ed impiegando poi detto derivato così funzionalizzato nella sintesi di detti pseudopeptidi solfonamidici, oppure direttamente sullo pseudopeptide caratterizzato dalla presenza di almeno un legame solfonamidico ed ottenuto secondo il presente trovato.

Secondo la presente invenzione, il procedimento per la sintesi di detti derivati di acidi solfonici gamma-ammino-alfa,beta-insaturi di formula generale (I), consiste nel convertire, secondo metodi noti, gli alfa-amminoacidi naturali in alfa-amminoaldeidi che a loro volta vengono convertite in detti derivati (I) mediante la reazione di Wittig-Horner.

Sempre secondo la presente invenzione, detti derivati di acidi solfonici gamma-ammino-alfa,beta-insaturi (I), possono essere vantaggiosamente preparati a partire da amminoacidi proteinogenici sia in forma (L) che in forma (D); tali amminoacidi proteinogenici sono di

elevata accessibilita' e sono per la maggior parte commercializzati a costi molto contenuti, rendendo cosi' la preparazione di detti derivati (I) agevole ed economica, anche a livello industriale.

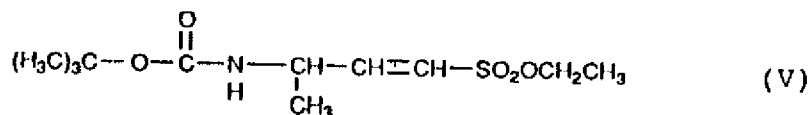
Ancora, secondo la presente invenzione, detti pseudo-peptidi caratterizzati dalla presenza di almeno un legame solfonamidico, quali ad esempio quello di formula (III), vengono ottenuti mediante un procedimento che consiste ad esempio nella trasformazione dell'estere solfonico gamma-ammino-alfa,beta-insaturo (II) in un sale solfonato, che viene successivamente sottoposto ad attivazione ed accoppiato ad un composto dotato di un opportuno gruppo reattivo, quale ad esempio lo stesso di formula (II) al quale sia stato precedentemente sbloccato il gruppo amminico. Il prodotto (III) cosi' ottenuto, puo' essere sottoposto ad ulteriori trattamenti, che prevedono ad esempio la possibilita' di sblocco alternativo e di attivazione o del gruppo solfonico o del gruppo amminico e conseguente accoppiamento di detto prodotto (III) con lo stesso composto (II) precedentemente sbloccato in posizione opportuna, realizzando cosi' un metodo di sintesi di pseudopeptidi solfonamidici secondo la presente invenzione di tipo iterativo, basato su metodi di protezione, sblocco ed accoppiamento.

Sempre secondo la presente invenzione, detto derivato (II) puo' essere sottoposto a sblocco alternativamente all'estere solfonico o al gruppo amminico ed accoppiato iterativamente con amminoacidi naturali.

Detto procedimento si e' inoltre rivelato particolarmente indicato, in quanto mantiene sostanzialmente inalterata la stereochimica caratteristica dei prodotti di partenza, consentendo cosi' di effettuare i vari passaggi di protezione, sblocco ed attivazione gia' descritti, in modo stereoconservativo. Gli pseudopeptidi solfonamidici ottenuti mediante detto procedimento e secondo la presente invenzione, risultano cosi' otticamente puri, considerando i limiti strumentali degli esperimenti condotti per determinare tale purezza.

ESEMPIO 1

Secondo la presente invenzione, la sintesi del composto avente la formula seguente:



viene effettuata come qui di seguito descritto, ed e'

riportata a solo titolo indicativo e non limitativo del presente trovato.

a) Preparazione di N-BOC-Alaninolo.

Una soluzione costituita da 1 g (0.0112 moli) di (S) alaninolo sciolti in 22 ml di cloruro di metilene, venne trattata con 2.45 g (0.0112 moli) di $(\text{BOC})_2\text{O}$ ad una temperatura di 0 °C sotto agitazione. Dopo 4 ore a temperatura ambiente, il solvente venne evaporato ed il residuo venne sciolto in 20 ml di etere dietilico. La fase eterica così ottenuta fu dapprima lavata con una soluzione di H_3PO_4 0.5 M e quindi trattata con salamoia, poi fu trattata con una soluzione di NaHCO_3 1.0 M ed ancora trattata con salamoia. La fase organica fu anidrificata su sodio solfato ed il solvente venne evaporato a pressione ridotta ottenendo 1.95 g (resa 99%) di (S) N-BOC-alaninolo.

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, ppm, CDCl_3): 1.15 (3H,d,J=6.7 Hz); 1.46 (9H,s,); 2.1 (1H,broad); 3.5 (1H,m); 3.65 (2H,m); 4.66 (1H,broad).

b) Preparazione di N-BOC-Alaninale.

Una soluzione costituita da 1.9 g (1.3 ml, 15 mmoli) di ossalilcloruro in 12 ml di cloruro di metilene, venne trattata sotto azoto e ad una temperatura di -63 °C con una soluzione costituita da 1.58 g di dimetilsolfossido (1.435 ml, 20 mmoli) in 6.1 ml di cloruro di metilene.

Alla soluzione risultante venne quindi aggiunta nel tempo di 30 minuti una soluzione costituita da 1.75 g di (S) N-BOC-alaninolo (10 mmoli) sciolti in 71.4 ml di cloruro di metilene. Trascorsi 10 minuti, venne aggiunta alla miscela di reazione una soluzione di 4.07 g di trietilammina (5.61 ml, 40 mmoli) in 12.2 ml di cloruro di metilene; tale aggiunta venne effettuata in 20 minuti e fu osservato un intorbidimento della miscela di reazione. L'analisi TLC (eluente esano:acetato di etile 1:1 (v/v)) ha mostrato che dopo 10 minuti ad una temperatura di -63°C la reazione era completa. La reazione fu quindi interrotta per lenta aggiunta di 8 ml di acqua, mantenendo sempre la temperatura a -63°C e la miscela di reazione sotto vigorosa agitazione.

La miscela fu quindi rapidamente versata in 120 ml di n-esano e lavata con 50 ml di una soluzione di KHSO_4 ottenuta diluendo 10 ml di una soluzione satura di KHSO_4 con 40 ml di acqua. La fase acquosa fu estratta con etere etilico, le fasi organiche così ottenute vennero combinate, lavate con una soluzione satura di NaHCO_3 (2x45 ml), con acqua (3x45 ml) e salamoia (2x45 ml). La fase organica così ottenuta fu anidrificata con solfato di sodio ed il solvente fu evaporato a pressione ridotta, ottenendo 1.6 g di (S) N-BOC-

Alaninale (resa 92%).

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, ppm, CDCl_3): 1.35 (3H,d, $J=6.5$ Hz); 1.46 (9H,s); 4.25 (1H,m); 5.1 (1H,broad); 9.57 (1H,s).

c) Preparazione del Solfonato di etile alfa,beta-insaturo (V).

Una soluzione di 5.0 g di etil-dietilfosforil-metansolfonato $(\text{EtO})_2\text{PO-CH}_2\text{SO}_3\text{Et}$ (19.2 mmoli) (preparato come descritto in CARRETERO J.C. et al. Tetrahedron 43, 5125 (1987)) in 72.0 ml di THF, venne trattata sotto azoto e ad una temperatura di -78°C con 13.2 ml (21.1 mmoli) di una soluzione 1.6 M di n-BuLi in n-esano. La miscela venne mantenuta 20 minuti sotto agitazione ad una temperatura di -78°C e quindi furono aggiunti 3.3 g (19.2 mmoli) di (S) N-BOC-Alaninale ottenuto come descritto al punto b) sciolti in 5.0 ml di THF. Dopo 30 minuti la reazione venne interrotta per trattamento della miscela con tampone fosfato a pH 7 e la fase acquosa fu estratta con etere etilico. Le fasi organiche estratte furono combinate ed anidrificate su solfato di sodio ed il solvente fu evaporato a pressione ridotta. La miscela grezza così ottenuta, fu purificata per flash cromatografia utilizzando come miscela eluente n-esano:acetato di etile 7:3 (v/v) e furono ottenuti 4.18 g di solfonato (IV) (resa 78%).

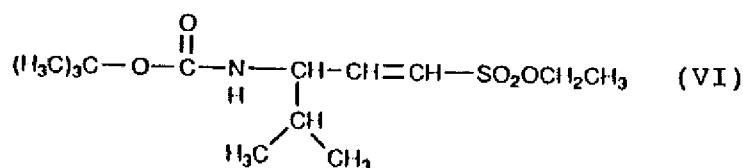
$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, ppm, CDCl_3): 1.33 (3H,d, $J=6.9$ Hz);

1.39 (3H,t,J=7.2 Hz); 1.46 (9H,s); 4.18 (2H,q,J=7.2 Hz); 4.44 (1H,m); 4.6 (1H,broad); 6.30 (1H,dd,J=15.10 Hz, J=1.61 Hz); 6.83 (1H,dd, J=15.10 Hz, J=4.96 Hz).

^{13}C -NMR (200 MHz, ppm, CDCl_3): 14.65 (CH_3); 19.58 (CH_3); 28.13 ($[\text{CH}_3]_3$); 47.14 (CHN); 66.85 (CH_2); 123.86 (CH=); 149.61 (CH=).

ESEMPIO 2

Sempre secondo la presente invenzione, il composto avente la formula seguente:



viene sintetizzato come qui di seguito descritto, sempre a titolo indicativo e non limitativo del presente trovato.

a) Preparazione di N-BOC-Valinolo.

A partire da (S) Valinolo e seguendo la procedura descritta nell'Esempio 1, punto a), fu ottenuto (S) N-BOC-Valinolo in rese del 97%.

^1H -NMR (200 MHz, ppm, CDCl_3): 0.93 (3H,d, J=6.7 Hz); 0.96 (3H,d, J=6.7 Hz); 1.46 (9H,s); 1.85 (1H,m); 2.35 (1H,broad); 3.45 (1H,m); 3.66 (2H,m); 4.65 (1H,broad).

b) Preparazione di N-BOC-Valinale.

A partire da (S) N-BOC-Valinolo e seguendo la procedura descritta nell'Esempio 1, punto b), fu ottenuto (S) N-BOC-Valinale in rese del 90%.

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, ppm, CDCl_3): 0.95 (3H, d, $J=6.5$ Hz); 1.05 (3H, d, $J=6.5$ Hz); 1.45 (9H, s,); 2.30 (1H, m); 4.25 (1H, m); 5.22 (1H, broad); 9.65 (1H, s).

c) Preparazione del Solfonato di etile alfa,beta-insaturo (VI).

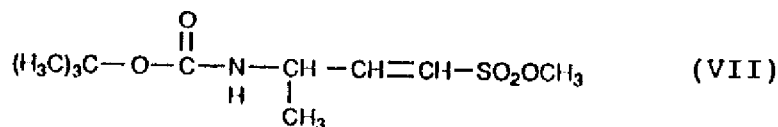
A partire da (S) N-BOC-Valinale e seguendo la procedura descritta nell'Esempio 1, punto c), fu ottenuto il Solfonato di formula (V) in rese del 77%.

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, ppm, CDCl_3): 0.96 (3H, d, $J=6.4$ Hz); 0.98 (3H, d, $J=6.4$ Hz); 1.39 (3H, t, $J=7.5$ Hz); 1.47 (9H, s); 1.92 (1H, m, $J=6.4$ Hz); 4.27 (2H, q, $J=7.5$ Hz); 4.15 (1H, m); 4,6 (1H, broad); 6.32 (1H, dd, $J=14.90$ Hz, $J=1.90$ Hz); 6.82 (1H, dd, $J=14.90$ Hz, $J=4.80$ Hz).

$^{13}\text{C-NMR}$ (200 MHz, ppm, CDCl_3): 14.69 (CH_3); 17.95 ($2\times\text{CH}_3$); 18.74 (CH_3); 28.14 ($[\text{CH}_3]_3$); 31.78 ($\text{CH}[\text{Me}_2]$); 56.38 (CHN); 66.81 (CH_2); 125.16 (CH=); 147.63 (CH=).

ESEMPIO 3

Ancora, secondo la presente invenzione, il composto avente la formula seguente:



viene preparato come qui di seguito descritto, sempre a titolo indicativo e non limitativo del presente trovato.

Venne seguita la procedura descritta nell'Esempio 1, punti a), b) e c) a partire da (S) alaninolo ma venne impiegato metil-dietilfosforil-metanfosfonato $(EtO)_2PO-CH_2SO_3Me$ al posto di etil-dietilfosforil-metansolfonato $(EtO)_2PO-CH_2SO_3Et$.

La miscela grezza venne purificata per flash cromatografia utilizzando come miscela eluente n-esano:etile acetato 75:25 (v/v) e cristallizzata (n-esano/etile acetato 7/3); fu ottenuto il Solfonato di metile alfa,beta-insaturo (VII) con una resa del 75%.

p.f.= 89-91 °C

$[\alpha]_D = -22.3^\circ$ (c 1.0, $CHCl_3$)

1H -NMR (200 MHz, ppm, $CDCl_3$): 1.33 (3H,d, $J=7.0$ Hz); 1.45 (9H,s); 3.82 (3H,s); 4.45 (1H,m); 4.61 (1H,d, $J=4.40$ Hz); 6.27 (1H,dd, $J=15.10$ Hz, $J=1.60$ Hz); 6.86 (1H,dd, $J=15.10$ Hz, $J=4.97$ Hz).

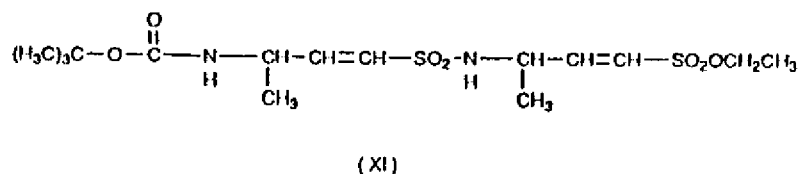
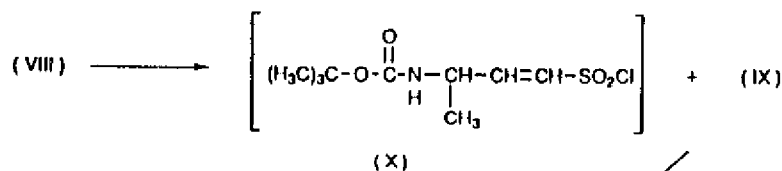
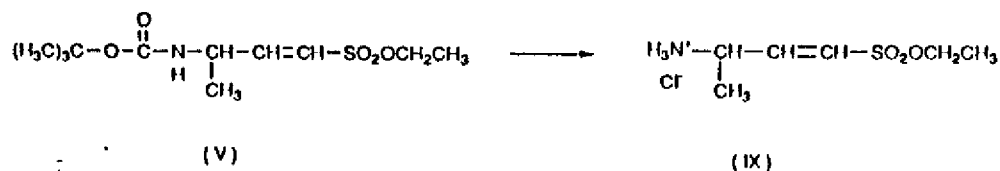
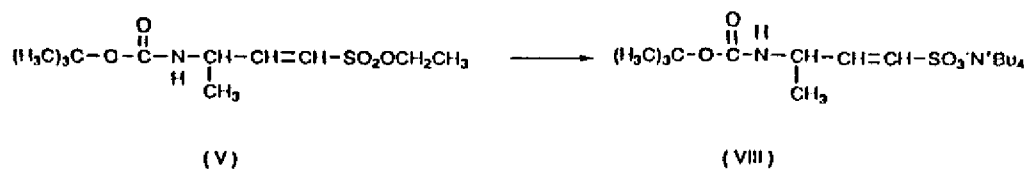
^{13}C -NMR (200 MHz, ppm, $CDCl_3$): 19.61 (CH_3); 28.15 ($[CH_3]_3$); 46.75 (CHN); 56.16 (OCH_3); 122.71 (CH=);

150.66 (CH=).

ESEMPIO 4

Il procedimento sopra descritto, che consente di ottenere pseudo-peptidi caratterizzati dalla presenza di almeno un legame solfonamidico secondo la presente invenzione, può essere schematizzato come segue quando, ad esempio, viene utilizzato il prodotto (V) come materiale di partenza:

SCHEMA 1



e viene dettagliatamente descritto negli esempi qui di seguito riportati.

a) Preparazione del sale solfonato (VIII).

Una soluzione di 1.0 g (3.6 mmoli) di Solfonato di etile alfa,beta-insaturo (V) in 20 ml di acetone, venne trattata, in atmosfera di azoto e sotto agitazione, con 1.33 g (3.6 mmoli) di $n\text{-Bu}_4\text{NI}$ ricristallizzato da una miscela etile acetato/metanolo 95/5.

La miscela di reazione venne lasciata a ricadere per 16 ore, controllando la progressiva scomparsa di prodotto di partenza mediante TLC impiegando come sistema eluente n -esano: etile acetato 6:4 (v/v). Dopo evaporazione del solvente a pressione ridotta, furono ottenuti 1.774 g di sale solfonato (VIII) (resa 100%).

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, ppm, CDCl_3): 1.0 (12H,t, $J=7.6$ Hz); 1.20 (3H,d, $J=6.8$ Hz); 1.40 (9H,s); 1.4-1.8 (16H,m); 3.3 (8H,m); 4.30 (1H,m); (4.45 (1H,broad); 6.42 (2H,m).

b) Preparazione dell'ammina cloridrato (IX).

250 mg (0.89 mmoli) di Solfonato di etile alfa,beta-insaturo (V) furono trattati con 5 ml di una soluzione di HCl 3M in metanolo, in atmosfera di azoto e ad una temperatura di $^{\circ}\text{C}$. La miscela di reazione venne mantenuta sotto agitazione a $^{\circ}\text{C}$ per 5 ore, controllando la scomparsa progressiva del prodotto di partenza mediante TLC utilizzando come sistema eluente una miscela n -

esano:etile acetato 6:4 (v/v). Il solvente venne quindi evaporato a pressione ridotta ed il prodotto risultante venne posto sotto vuoto (0.1 mmHg). Si ottennero 192 mg (resa 100%) di sale cloridrato, che fu utilizzato nelle reazioni successive senza ulteriori purificazioni.

c) Preparazione dello pseudopeptide solfonammidico (XI).

180 mg (0.107 ml, 1.33 mmoli) di cloruro di solforile furono aggiunti ad una soluzione di 320 mg di trifenilfosfina Ph_3P (1.224 mmoli) in 1.5 ml di cloruro di metilene a 0°C, sotto azoto ed in presenza di setacci molecolari di 3 Å. Una soluzione di 302 mg (0.611 mmoli) di sale solfonato (VIII) in 2.0 ml di cloruro di metilene venne quindi aggiunta sotto agitazione, a temperatura ambiente e sotto azoto.

La miscela di reazione venne mantenuta sotto agitazione a temperatura ambiente per 150 minuti, quindi il solvente venne allontanato a pressione ridotta ed il prodotto grezzo fu purificato per flash cromatografia utilizzando una miscela eluente n-esano:etile acetato 6:4 (v/v). Si ottennero 142 mg di solfonil cloruro (X) (resa 85%).

$^1\text{H-NMR}$ (ppm, 200 MHz, CDCl_3): 1.32 (3H,d, $J=7.1$ Hz); 1.42 (9H,s); 4.5 (1H,broad); 5.0 (1H,broad); 6.80 (1H, dd, $J=14.80$ Hz, $J=1.09$ Hz); 6.97 (1H,dd, $J=14.80$ Hz,

$J=4.40$ Hz).

^{13}C -NMR (ppm, 200 MHz, CDCl_3): 19.364 (CH_3); 28.144 ($[\text{CH}_3]_3$); 46.488 (CHN); 132.678 ($\text{CH}=\text{}$); 150.425 ($\text{CH}=\text{}$); 154.648 ($\text{C}=\text{O}$).

142 mg (0.525 mmoli) di solfonil cloruro (X) ottenuto come sopra descritto, furono sciolti in 4.0 ml di cloruro di metilene e quindi venne aggiunta, tutta in una volta, una soluzione costituita da 74.6 mg (0.35 mmoli) di (IX) in 2.0 ml di cloruro di metilene, contenente 0.052 ml (0.35 mmoli) di DBU e 8.4 mg (0.070 mmoli) di 4-dimetilamminopiridina (DMAP).

Dopo l'aggiunta, vennero ulteriormente aggiunti, lentamente e durante tre ore, 0.078 ml (0.525 mmoli) di DBU in 1.0 ml di cloruro di metilene. La miscela venne mantenuta a riflusso per 5 ore, quindi venne diluita con cloruro di metilene e trattata con 2.0 ml di tampone fosfato a pH 7. La fase acquosa fu estratta con cloruro di metilene, gli estratti organici furono combinati, anidrificati su solfato di sodio ed evaporati. Si ottenne un prodotto grezzo che fu purificato per flash cromatografia utilizzando come eluente una miscela n-esano:etile acetato 1:1 (v/v) ottenendo (XI) con rese del 50%.

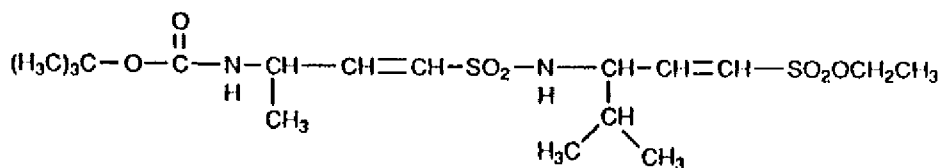
^1H -NMR (200 MHz, ppm, CDCl_3): 1.32 (3H, d, $J=7.1$ Hz); 1.39 (3H, d, $J=7.0$ Hz); 1.41 (3H, t, $J=7.0$ Hz); 1.46

(9H,s); 4.15 (1H,m); 4.22 (2H,q, J=7.0 Hz); 4.36 (1H,m); 4.75 (2H,m); 6.30 (1H,dd, J=15.0 Hz, J=1.2 Hz); 6.47 (1H,dd, J=15.1, J=1.3 Hz); 6.68 (1H,dd, J=15.0 Hz, J=5.4 Hz); 6.82 (1H,dd, J=15.1, J=5.2 Hz).

^{13}C -NMR (200 MHz, ppm, CDCl_3): 15.51(CH_3); 20.30(CH_3); 21.51(CH_3); 28.91($[\text{CH}_3]_3$); 47.4(CH); 50.23(CH); 67.91(OCH_2); 126.26(CH=); 128.61(CH=); 147.47(CH=); 148.73(CH=); 157(O-C=O).

ESEMPIO 5

Sempre secondo la presente invenzione, il composto (XII) avente la formula seguente:



(XII)

viene preparato secondo il metodo già descritto negli Esempi 4, 5 e 6 a partire dal composto (V) e dal composto (VI); detto composto (XII) fu ottenuto in forma grezza e fu purificato e caratterizzato come qui di seguito descritto.

Il prodotto grezzo (XII) fu purificato per flash cromatografia utilizzando come eluente una miscela n-esano:etile acetato 6:4 (v/v).

^1H -NMR (200 MHz, ppm, CDCl_3): 0.98 (3H,d, J=6.8 Hz); 0.99 (3H,d, J=6.8 Hz); 1.30 (3H,d, J=7.1 Hz); 1.41

(3H,t, $J=7.1$ Hz); 1.45 (9H,s); 1.94 (1H,m); 3.86 (1H,m); 4.23 (2H,q, $J=7.1$ Hz); 4.39 (1H,m); 4.75 (2H,m); 6.29 (1H,dd, $J=15.1$ Hz, $J=1.4$ Hz); 6.47 (1H,dd, $J=15.2$ Hz, $J=1.2$ Hz); 6.68 (1H,dd, $J=15.1$ Hz, $J=5.3$ Hz); 6.80 (1H,dd, $J=15.2$ Hz, $J=6.0$ Hz).

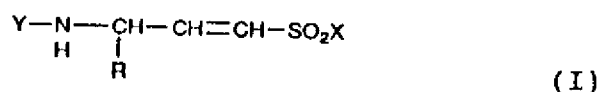
^{13}C -NMR (200 MHz, ppm, CDCl_3): 14.80 (CH_3); 18.04 (CH_3); 18.59 (CH_3); 27.97 (CH_3); 28.21 ($[\text{CH}_3]_3$); 32.28 (CH); 46.51 (CHN); 56.19 (CHN); 67.21 (OCH_2); 126.91 (CH=); 127.89 (CH=); 146.22 (CH=); 146.67 (CH=).

Roberto Trupiano

Braylli Europa s.r.l.


RIVENDICAZIONI

1. Prodotti derivati di acidi ammino solfonici, caratterizzati dal fatto che hanno la seguente formula generale:



dove:

R e' scelto tra : idrogeno, frammenti corrispondenti alle catene laterali degli amminoacidi naturali, catene alchiliche sostituite o non sostituite, lineari, ramificate o cicliche, catene arilalchiliche, gruppi arilici ed eteroaromatici;

Y indica idrogeno ivi comprese le possibili forme saline dell'ammina corrispondente, oppure un qualsiasi gruppo protettivo comunemente utilizzato per la protezione dei gruppi amminici;

X indica Cl, OH, OCH_2CH_3 , OCH_3 , ONBu_4 , NHCH_2Ph .

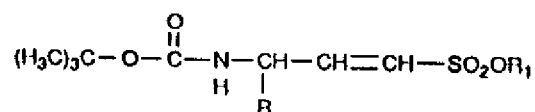
2. Prodotto derivato di acidi ammino solfonici secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che R e' scelto uguale a $-\text{CH}_3$, Y e' scelto uguale al gruppo

protettivo $(\text{CH}_3)_3\text{C-OCO-}$ e X e' scelto uguale a Cl.

3. Prodotto derivato di acidi ammino solfonici secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che Y e' scelto uguale al gruppo protettivo $(\text{CH}_3)_3\text{C-OCO-}$, R e' scelto uguale a CH_3 , X e' scelto uguale a ONBu_4 .

4. Prodotto derivato di acidi ammino solfonici secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che Y e' scelto uguale ad idrogeno e detta ammina corrispondente e' in forma di sale cloridrato, R e' scelto uguale a CH_3 ed X e' scelto uguale a OCH_2CH_3 .

5. Prodotti derivati di acidi ammino solfonici secondo la rivendicazione 1, caratterizzati dal fatto che R e' scelto tra le catene laterali degli amminoacidi proteinogenici, Y e' uguale al gruppo protettivo $(\text{CH}_3)_3\text{C-OCO-}$, X e' uguale a OR_1 dove R_1 e' scelto tra $-\text{CH}_3$ e $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, secondo la formula seguente:



(II)

6. Prodotto derivato di acidi ammino solfonici secondo la rivendicazione 5, caratterizzato dal fatto che R e'

uguale a CH_3 ed R_1 e' uguale a $-\text{CH}_2\text{CH}_3$.

7. Prodotto derivato di acidi amminosolfonici secondo la rivendicazione 5, caratterizzato dal fatto che R e' uguale a $(\text{CH}_3)_2\text{CH}-$ ed R_1 e' uguale a $-\text{CH}_2\text{CH}_3$.

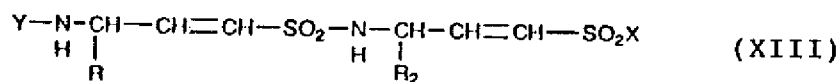
8. Prodotto derivato di acidi amminosolfonici secondo la rivendicazione 5, caratterizzato dal fatto che R e' uguale a CH_3 ed R_1 e' uguale a $-\text{CH}_3$.

9. Prodotti derivati di acidi amminosolfonici secondo la rivendicazione 1, caratterizzati dal fatto che sono funzionalizzati al doppio legame, con inserimento, in posizione alfa-beta di un gruppo epossido o di un gruppo ciclopropano.

10. Prodotti derivati di acidi ammino solfonici secondo la rivendicazione 1, caratterizzati dal fatto che sono impiegati come sintoni nella sintesi di pseudopeptidi.

11. Pseudopeptidi ottenuti mediante impiego di detti sintoni secondo la rivendicazione 10, caratterizzati dal fatto che sono provvisti di almeno un legame di tipo solfonammidico coniugato ad un doppio legame.

12. Pseudopeptidi secondo la rivendicazione 11, caratterizzati dal fatto che hanno la seguente formula:



dove R_2 e' scelto tra idrogeno, frammenti corrispondenti alle catene laterali degli amminoacidi naturali, catene alchiliche sostituite o non sostituite, lineari, ramificate o cicliche, catene arilalchiliche, gruppi arilici ed eteroaromatici, ed e' uguale o diverso da R.

13. Pseudopeptide secondo la rivendicazione 12, caratterizzato dal fatto che Y e' uguale al gruppo protettivo $(CH_3)_3C-OCO-$, R e' uguale ad R_2 e uguale a CH_3 ed X e' uguale a $NHCH_2Ph$.

14. Pseudopeptide secondo la rivendicazione 12, caratterizzato dal fatto che Y e' uguale al gruppo protettivo $(CH_3)_3C-OCO-$, R e' uguale ad R_2 e uguale a CH_3 ed X e' uguale ad $-OCH_2CH_3$.

15. Pseudopeptide secondo la rivendicazione 12, caratterizzato dal fatto che Y e' uguale al gruppo protettivo $(CH_3)_3C-OCO-$, R e' CH_3 , R_2 e' $(CH_3)_2CH-$ ed X e' uguale a $-OCH_2CH_3$.

16. Pseudopeptidi secondo la rivendicazione 11, caratterizzati dal fatto che sono funzionalizzati ad almeno un doppio legame in posizione alfa-beta rispetto al gruppo solfonammidico, con ottenimento di un gruppo epossido o ciclopropano.

17. Procedimento per la preparazione di prodotti derivati di acidi ammino solfonici secondo la rivendicazione

ne 1, caratterizzato dal fatto che comprende le seguenti fasi:

- conversione di un alfa-amminoacido naturale in una alfa-amminoaldeide,
- conversione di detta alfa-amminoaldeide in detto prodotto derivato di acido amminosolfonico mediante reazione di Wittig-Horner.

18. Procedimento per la preparazione di prodotti derivati di acidi ammino solfonici secondo la rivendicazione 17, caratterizzato dal fatto che detti alfa-amminoacidi naturali sono amminoacidi proteinogenici sia in forma (L) che in forma (D).

19. Procedimento per la preparazione di pseudopeptidi secondo la rivendicazione 11, caratterizzato dal fatto che comprende le seguenti fasi:

- trasformazione di un estere solfonico gamma-ammino-alfa,beta-insaturo derivato da (I), in un corrispondente sale solfonato,
- attivazione di detto sale solfonato, con ottenimento di un sale solfonato attivato,
- accoppiamento tra detto sale solfonato attivato ed il prodotto derivato di acidi ammino solfonici (I) opportunamente attivato al gruppo amminico, con ottenimento di uno pseudopeptide provvisto di un legame solfonamidico.

20. Procedimento per la preparazione di pseudopeptidi, caratterizzato dal fatto che detto pseudopeptide di cui alla rivendicazione 12, e' sottoposto a sblocco ed attivazione alternativamente del gruppo amminico o del gruppo solfonico, ed a successivo accoppiamento con (I) opportunamente attivato, realizzando cosi' un procedimento di tipo iterativo con ottenimento di uno pseudopeptide provvisto di legami solfonammidici.

21. Procedimento per la preparazione di pseudopeptidi secondo la rivendicazione 11, caratterizzato dal fatto che comprende le seguenti fasi:

- trasformazione di un estere solfonico gamma-ammino-alfa,beta-insaturo derivato da (I), in un corrispondente sale solfonato,
- attivazione di detto sale solfonato, con ottenimento di un sale solfonato attivato,
- accoppiamento tra detto sale solfonato attivato ed un amminoacido naturale opportunamente attivato, con ottenimento di uno pseudopeptide provvisto di un legame solfonammidico, e provvisto di almeno un gruppo carbossilico libero, protetto, salificato o attivato.

22. Procedimento per la preparazione di pseudopeptidi caratterizzato dal fatto che lo pseudopeptide di cui alla rivendicazione 21, e' sottoposto a sblocco ed

attivazione alternativamente del gruppo amminico o del gruppo carbossilico ed a successivo accoppiamento con un amminoacido naturale o con (I) opportunamente attivati, realizzando così un procedimento di tipo iterativo con ottenimento di uno pseudopeptide provvisto di almeno un legame solfonammidico.

Roberto Trupiano

Progetti Europa s.r.l.
